

Ueber die Bestimmung des Hämoglobin- und Sauerstoffgehaltes im Blute.

Von G. Hüfner.

(Der Redaction zugegangen am 15. Dezember 1878.)

Am Ende einer im 1. Bande dieser Zeitschrift ¹⁾ mitgetheilten Experimentalarbeit habe ich die Hoffnung ausgesprochen, dass die spectrophotometrische Methode mit Hilfe der am angegebenen Orte sehr annähernd festgestellten Constante $\frac{V}{Hb}$ die mühsamen und dabei vielleicht nicht einmal genügenden Bestimmungen des Blutsauerstoffs mittelst Quecksilberpumpe und Analyse in Zukunft entbehrlich machen werde. Auch versprach ich dort gleichzeitig die Richtigkeit dieses Ausspruchs in einer nächsten Untersuchung experimentell zu erweisen.

Im Folgenden soll gezeigt werden, dass und in welchem Maasse die Lösung dieser Aufgabe mir seitdem gelungen ist.

Da wir von keiner Blutart, die wir den Gefässen des lebenden Thieres entnehmen, — auch vom arteriellen Blute nicht —, mit Bestimmtheit erwarten dürfen, dass sie in der That völlig mit Sauerstoff gesättigt sei ²⁾, da wir im Gegentheil vom venösen Blute aus spectroscopischen Versuchen mit Sicherheit wissen ³⁾, dass es neben sauerstoffhaltigem auch sauerstofffreies Hämoglobin enthält, so hat die Spectrophotometrie, — wenn anders sie über den Sauerstoffgehalt eines

¹⁾ A. a. O. 1, 317—329 und 1, 386—394.

²⁾ Vergl. die an exacten Daten so reiche Abhandlung von J. Wormmüller: Ueber die Spannung des Sauerstoffs der Blutscheiben, in den Arbeiten aus der Physiologischen Anstalt zu Leipzig, mitgetheilt durch C. Ludwig, Jahrg. V. 119—171.

³⁾ Hoppe-Seyler, Centralbl. f. d. med. Wissensch. J. 1864 Nr. 52.
Zeitschrift f. physiol. Chem., III.

Blutes Aufschluss geben soll, — zunächst die Aufgabe zu erfüllen, trotz und neben dem sauerstofffreien Hämoglobin (Hämoglobin *ohne* O_2) zugleich die Menge des sauerstoffhaltigen, des Oxyhämoglobins, genau zu ermitteln.

Dass die Spectrophotometrie der ähnlichen Aufgaben sehr wohl gewachsen ist, geht aus Vierordt's betreffenden Untersuchungen ¹⁾ zur Genüge hervor. Es ist bekanntlich nur nöthig, für die beiden fraglichen Farbstoffe in 2 verschiedenen geeigneten Spectralregionen die als „Absorptionsverhältnisse“ bezeichneten optischen Constanten vorher ein für alle Male durch Messung festzustellen; denn, kennt man erst diese, so lässt sich mit Hülfe ihrer und der in den bezüglichen Spectralregionen gemessenen Extinctions-Coefficienten irgend einer beliebigen unzersetzten Blutlösung der Gehalt dieser letzteren an beiden Farbstoffen sehr leicht nach 2 einfachen Gleichungen berechnen.

Sei nämlich

A_r das Absorptionsverhältniss des Hämoglobins in der ersten,

A_r' dasjenige des gleichen Körpers in einer zweiten Spectralregion;

bedeuten ferner:

A_0 und A_0' die bezüglichen optischen Constanten des Oxyhämoglobins,

und seien endlich

E und E' die Extinctionscoefficienten der zu untersuchenden Blutlösung in den respectiven Spectralbezirken, so erhält man den Procentgehalt der Lösung an Hämoglobin, p_r , nach der Gleichung:

$$p_r = \frac{A_r A_r' (E' A_0' - E A_0)}{A_0' A_r - A_0 A_r'} \quad (1)$$

und denjenigen an Oxyhämoglobin, p_0 , aus

$$p_0 = \frac{A_0 A_0' (E A_r - E' A_r')}{A_0' A_r - A_0 A_r'} \quad (2)$$

¹⁾ Vierordt: Die Anwendung des Spectralapparats zur Photometrie der Absorptionsspectren und zur quantitativen chemischen Analyse. Tübingen, 1873 S. 51 ff.

§ 2.

In meiner letzterwähnten Arbeit wurde der Werth des Absorptionsverhältnisses vom Oxyhämoglobin für die Gegend des sogenannten zweiten Bandes, wie er sich als Mittel aus einer Reihe von 14 Einzelmessungen ergeben hatte, = 0,1154 angenommen. Dabei war aber ausdrücklich bemerkt ¹⁾, dass, wenn bei der Bestimmung der Concentration von Normallösungen von „trockenem Hämoglobin“ die Rede sei, darunter ein solches zu verstehen wäre, das man durch Stehenlassen über Schwefelsäure, bei 0° Temperatur und im nicht ausgepumpten Raume, gewonnen habe. Um ganz sicher zu gehen, habe ich die Versuche zur Feststellung jener fundamentalen optischen Constante noch einmal aufgenommen, und zwar mit Lösungen, deren Procentgehalt auf ein Präparat bezogen ist, das nach dem Entwässern über Schwefelsäure noch bis zum Gleichbleiben des Gewichts bei einer Temperatur von 110° im Trockenschranke gehalten worden war.

Im Uebrigen blieb die bei der Feststellung von Normallösungen befolgte Methode ganz die gleiche wie früher. Wie theilweise schon in der genannten Arbeit, so bedeuten auch im Folgenden:

- γ das Gewicht des gelösten Bröckchens,
- γ dessen unbekanntes Trockengewicht,
- Q das Gewicht des Lösungsmittels,
- g das Gewicht des zur Trocknung über Schwefelsäure verwandten Kuchenrestes,
- g' das Gewicht des letzteren nach dem Trocknen über Schwefelsäure,
- x einen aliquoten Theil von g', der, gepulvert, für die weitere Trocknung über 100° abgewogen wird,
- s' das Gewicht dieses Theils nach dem Trocknen über 100°,
- s das unbekanntes Gewicht von g' nach dem Trocknen über 100°.

¹⁾ A. a. O. S. 389.

Man erhält zunächst s aus

$$s = \frac{s'g'}{x}. \quad (1)$$

Da nun nach dem Früheren

$$\tau = \frac{s\gamma}{g}, \text{ so erhalten wir nach Vertau-}$$

schung von s mit seinem in (1) gegebenen Werthe

$$\tau = \frac{\gamma s'g'}{xg} \quad (2)$$

und die Concentration

$$c = \frac{100 \gamma s'g'}{xg (Q + \gamma)}. \quad (3)$$

§ 3.

Bestimmung der optischen Constanten des Oxyhämoglobins.

Mit den nach Gleichung (3) berechneten Concentrationen wurde das Absorptionsverhältniss des Oxyhämoglobins in zwei verschiedenen Spectralregionen photometrisch ermittelt: 1) in der Zwischenregion zwischen beiden Oxyhämoglobinstreifen und zwar von D 32 E bis D 54 E, 2) in der Gegend des zweiten Bandes, speciell von D 63 E bis D 79 E.

Ich gebe hier eine einzelne solche Versuchsreihe um bequemerer Uebersicht willen in zwei Hälften. In der zweiten Hälfte bezeichnen E_0 und E_0' die jeweiligen Extinctionscoefficienten in der Gegend des zweiten Bandes, A_0 und A_0' die bezüglichen Absorptionsverhältnisse.

Versuchsreihe Ia.

Ver- suchs- nummer.	g	g'	s'	x	γ	$Q + \gamma$	c
1.	4,4889	2,1683	1,8662	2,0707	0,0675	27,9488	0,10514
2.	—	—	—	—	0,0476	26,5240	0,07812
3.	—	—	—	—	0,0470	30,7840	0,06647

Versuchsreihe Ib.

Versuchsnummer.	c	ε_0	ε_0'	A_0	A_0'
1.	0,10514	0,73522	0,93190	0,1430	0,1128
2.	0,07812	0,54434	0,70094	0,1435	0,1114
3.	0,06647	0,51622	0,69538	0,1287	0,0999

Aus diesen und noch einigen weiteren Versuchen erhielt ich für A_0 A_0' folgende Einzelwerthe:

A_0 (D 32 E—D 54 E)	A_0' (D 63 E—D 79 E)
0,1511	0,1164
0,1594	0,1190
0,1455	0,0977
—	0,1154
—	0,1158
0,1430	0,1128
0,1435	0,1114
0,1287	0,0999
Mittel = 0,1452	0,1110

Der wahrscheinliche Fehler des Mittelwerthes, 0,1110, für A_0' ergibt sich aus einer nach bekannter Methode ausgeführten Berechnung = $\pm 0,0028$. Welches aber auch die anzubringende Correctur sein möge, jedenfalls bleibt die fragliche Zahl, wie zu erwarten war, kleiner als der früher angegebene Werth 0,1154. ¹⁾

Zur Sicherstellung des Werths von A_0 liessen sich freilich die vorliegenden 6 Einzeldaten schwerlich als genügend erachten. Um in Betreff seiner rascher zum Ziele zu kommen, — um wenigstens die Relation zwischen beiden Constanten

¹⁾ Die Constante $\frac{v}{Hb}$, die in der letzten Abhandlung = 1,16 angenommen wurde, wächst bei Zugrundelegung dieses neuen Werthes auf 1,21; — wie bereits mit Rücksicht auf die von Hoppe-Seyler gegebene Crystallwasserbestimmung am angeführten Orte vermuthet war. —

rasch und genügend fest zu stellen, nahm ich den eben für A_0' gefundenen Werth vorläufig als richtig an, und berechnete in einer längeren Reihe von mit passend verdünnten Lösungen ausgeführten Versuchen A_0 jedes Mal aus der leicht verständlichen Gleichung:

$$A_0 = \frac{\varepsilon_0'}{\varepsilon_0} A_0', \quad (4)$$

wozu nur die Extinctionsefficienten ε_0 und ε_0' jeweils aus directen Beobachtungsdaten abzuleiten waren.

Versuche mit verdünnten Blutlösungen, die zuvor tüchtig mit atmosphärischer Luft geschüttelt worden.

Versuchsreihe II.

Versuchsnummer.	A_0	A_0'
1.	0,1405	0,1110
2.	0,1482	—
3.	0,1474	—
4.	0,1423	—
5.	0,1498	—
6.	0,1476	—
7.	0,1478	—
8.	0,1387	—
9.	0,1415	—
10.	0,1474	—
Mittel =	0,1451	

Versuche mit verdünnten Blutlösungen, die vor dem Schütteln mit Luft bereits einmal mit Wasserstoffgas reducirt worden waren.

Versuchsreihe III.

Versuchsnummer.	A_0	A_0'
1.	0,1483	0,1110
2.	0,1547	—
3.	0,1515	—
4.	0,1520	—
5.	0,1513	—
6.	0,1479	—
7.	0,1458	—
8.	0,1446	—
Mittel =	0,1495	

Zieht man aus sämmtlichen Einzelwerthen der beiden letzten Versuchsreihen, als der immerhin mit einander vergleichbarsten, für Λ_0 das Mittel, so erhält man die Zahl 0,1477, behaftet mit einem wahrscheinlichen Fehler von nur + 0,00066. Thut man dasselbe aber mit sämmtlichen Einzelwerthen aller 3 Versuchsreihen, so ergibt sich das Mittel 0,1466 mit dem wahrscheinlichen Fehler + 0,000822. Ich wähle deshalb als endgültigen Werth für Λ_0 ein für alle Mal die erstere Zahl **0.1477**; natürlich immer unter der Voraussetzung, dass $\Lambda_0' = 0,1110$, wirklich richtig bestimmt sei.

§ 4.

Bestimmung der optischen Constanten des Hämoglobins.

Vor der Bestimmung der bezüglichen optischen Constanten des Hämoglobins, Λ_r und Λ_r' , galt es zuerst, diesen Körper selbst 1) in möglichster Reinheit zu gewinnen, 2) derart vor dem Zudringen von atmosphärischer Luft verwahrt vor den Spalt des Spectroskops zu bringen, dass eine Aufnahme von Sauerstoff durch die Lösung während der photometrischen Untersuchung vollständig ausgeschlossen war.

Als Material diente mit einer halbprocentigen Lösung von kohlensaurem Natron etwa 160fach verdünntes defibrirtes Blut. Als Reductionsmittel wurde ein Strom von Wasserstoffgas gewählt, das aus Zink und verdünnter Schwefelsäure entwickelt und, nach Schobig's Vorschlag¹⁾, nach einander durch Waschen mit übermangansaurem Kali, Natronlauge und reinem Wasser gereinigt wurde. Die Reduction geschah in einem Will-Varrentrappschen Kugelapparate. Derselbe stand auf der andern Seite durch einen kurzen Kautschukschlauch mit der besonders construirten Absorptionszelle in Verbindung, welche die reducirte Lösung aufnehmen und deren spectrophotometrische Untersuchung ohne Gefahr für die Integrität des Farbstoffs gestatten sollte.

¹⁾ Journal f. pr. Chemie (II) 14, 289.



Fig. 1.

Die Absorptionszelle (siehe Fig. 1.) besteht der Hauptsache nach aus einem messingenen, innen und aussen gut vernickelten, viereckigen Rahmen, in welchen oben und unten je ein röhrenförmiger, mit einem gut schliessenden Hahnen versehener, gleichfalls innen und aussen vernickelter, Fortsatz eingeschraubt ist. Die Wände des Rahmens haben in der Richtung der Durchsicht durch die Zelle einen Durchmesser von genau 11 Millimeter, sind blank polirt und gestatten das scharfe Anschliessen von 2 planparallelen Gläsern, die wesentlich durch eine Federvorrichtung angeedrückt erhalten werden. Im Innern befindet sich der bekannte Schulz'sche Körper, dessen Dickedurchmesser genau 10 Millimeter beträgt.

Die Reduktion von etwa 20 Cem. der verdünnten Blutlösung dauerte durchschnittlich 1 Stunde. Ihr Fortschritt wurde in kurzen Pausen mit einem kleinen Hilger'schen Spectroskope beobachtet.

Während der ganzen Zeit strömte das aus dem Kugelapparate entweichende Gas aber auch noch durch die Absorptionszelle und verdrängte so aus diesem engen Raume die Reste atmosphärischer Luft wohl in genügender Weise. Verkündete das Spectroskop das Ende der Reduction, so genügte ein geringes Heben des Kugelapparats, um die Flüssigkeit, vom Wasserstoffgase gedrängt, in die Zeile treten zu lassen. Der Schluss der die letztere bildenden Wände war jederzeit so dicht, dass die Glasplatten auch nach Entfernung des Federdrucks noch fest am Metallrahmen haften blieben.

War die oben beschriebene Absorptionszelle gefüllt, so wurde der Rest der Flüssigkeit mit Luft geschüttelt und so sämtliches Hämoglobin in die Sauerstoffverbindung zurückverwandelt. Die letztere Lösung diente zur photometrischen Bestimmung des Farbstoffgehaltes, resp. der Concentration,

der verwandten Flüssigkeit mit Hülfe der oben für das Oxyhämoglobin gefundenen Constanten.¹⁾

Die Berechnung der gesuchten Werthe geschah nach folgenden 2 Gleichungen:

$$A_r = \frac{\varepsilon_0' A_0'}{\varepsilon_r}, \quad (5)$$

$$A_{r'} = \frac{\varepsilon_0' A_0'}{\varepsilon_{r'}}. \quad (6)$$

Darin bedeuten ε_r und $\varepsilon_{r'}$ die für die oben bezeichneten Spectralregionen (D₃₂ E — D₅₄ E und D₆₃ E — D₇₉ E) an den reducirten Lösungen gefundenen Extinctionscoefficienten und A_r , $A_{r'}$ die bezüglichen Absorptionsverhältnisse.

Hier folgt eine Reihe von auf solchem Wege erhaltenen Resultaten:

Versuchsreihe IV.

Versuchsnummer.	A_r	$A_{r'}$	A_0'
1.	0,1185	—	0,1110
2.	0,1172	—	—
3.	0,1132	0,1453	—
4.	0,1178	0,1473	—
5.	0,1250	0,1510	—
6.	0,1282	0,1639	—
7.	0,1297	0,1526	—
8.	0,1337	0,1567	—
9.	0,1217	0,1475	—
10.	0,1163	0,1388	—
11.	0,1207	0,1362	—

Mittel = **0,1220** **0,1499**

Die Rechnung zeigt, dass der Mittelwerth für A_r mit einem wahrscheinlichen Fehler von $\pm 0,013$, derjenige für $A_{r'}$ mit einem solchen von $\pm 0,019$ behaftet ist. Es sei fer-

¹⁾ Da das Molekulargewicht des Hämoglobins im Vergleiche zu dem des Sauerstoffs ein so ungeheuer grosses ist, dass sich der Unterschied zwischen dem Molekulargewichte der sauerstoffhaltigen und dem der sauerstofffreien Verbindung erst in der 4. Zahlenstelle bemerkbar macht, so glaube ich mir diese Gleichstellung der Concentration der einen Lösung mit derjenigen der andern wohl erlauben zu dürfen. Jedenfalls liegen — wie eine einfache Rechnung zeigt — die dadurch hervorgerufenen Differenzen im Ausfalle der für die gesuchten Constanten gefundenen Zahlenwerthe weit innerhalb der sonstigen Fehlergrenzen.

ner bemerkt, dass in 8 von den 11 Fällen auch A_0 von Neuem durch Beobachtung bestimmt wurde. Es sind dieselben 8 Fälle, die zusammen als besondere Versuchsreihe II bereits oben mitgetheilt wurden.¹⁾

§ 5.

Will man die in einer Blutportion enthaltenen Hämoglobin- und Oxyhämoglobinnengen gleichzeitig mit einander bestimmen, so sind erst folgende Vorbedingungen zu erfüllen. Zunächst muss das Blut unter Luftabschluss über luftfreiem Quecksilber aufgefangen und durch Schütteln mit diesem defibrinirt: hierauf muss ein Theil dieses defibrinirten Blutes, gleichfalls unter Luftabschluss, mit vollständig reinem und völlig luftfreiem Wasser zweckmässig und in genau messbarer Weise verdünnt, und endlich drittens muss, nachdem dies alles geschehen, ein Theil dieser verdünnten Lösung in die oben beschriebene Absorptionszelle, und zwar unter den gleichen Vorsichtsmassregeln wie früher, übergedrängt werden.

Die Apparate und Kunstgriffe, mit welchen der ersten Bedingung genügt werden kann, sind bekannt.

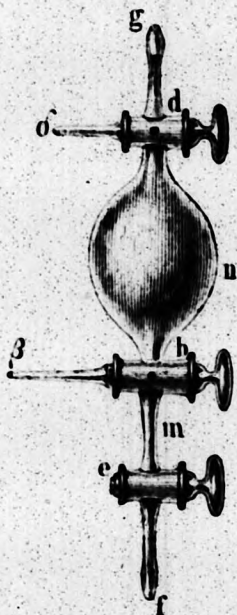


Fig. II.

Zur Erfüllung der zweiten Bedingung benutzte ich einen dafür eigens angefertigten gläsernen Kugelapparat, der, wie beistehende Figur II. erläutert, im Wesentlichen aus 2 ungleich grossen Stücken besteht, m und n. Davon dient m zur Aufnahme des defibrinirten Blutes, n zur Aufnahme des luftfreien Wassers. Der letztere Raum ist etwa 160 mal grösser, als der erstere.

Beide sind genau mit Quecksilber ausgegogen, und der Inhalt von n wird so angegeben, dass er die kurze Hauptbohrung des Schwanzzahns b zugleich mit umfasst.

¹⁾ Ein in ähnlicher Weise, wie die eben beschriebenen, ausgeführter vorläufiger Versuch ergab für Kohlenoxydhämoglobin:

Spectralregion.	A
$D_{33} E - D_{34} E$	0,1329
$D_{63} E - D_{73} E$	0,1174

Die Füllung von n mit luftfreiem Wasser findet jedesmal zuerst statt. Sie geschieht durch Ansaugen; nachdem man erst n mit einer Luftpumpe evacuirt und den ganzen Apparat bei g mittelst Kautschukschlauchs k mit einem grösseren, ca. $\frac{1}{2}$ Liter fassenden, am einen Ende zu einer feinen

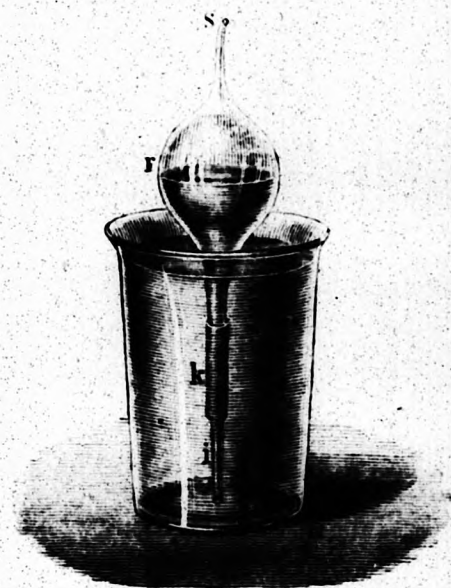


Fig. III.

Spitze s ausgezogenen Glasballon r (siehe Fig. III.) in Verbindung gesetzt hat, in welchem während 2er Stunden reines destillirtes Wasser im heftigen Sieden erhalten und darauf, nach Verschluss des Schlauches k mit dem Glasstopfen i, durch Eintauchen in kaltes Wasser auf Zimmertemperatur abgekühlt worden ist. Ist nämlich erst nach Entfernung von i, während kurzen Verschlusses von k mit dem Finger, die Verbin-

dung von g mit r bewerkstelligt, so genügt bei hochgehaltenem Ballon r das Abbrechen der Spitze s, um das Wasser aus r in n (Hahnbohrung von b eingeschlossen) rasch über-treten zu lassen.

Die Füllung von m geschieht von dem Schwanzfortsatze z des Hahnes b aus, und zwar durch Verdrängung des Blutes aus dem durch einen Kautschukschlauch mit ihm verbundenen Schüttelgefässe unter Quecksilberdruck. Dabei wird stets die Vorsicht gebraucht, die Hähne e und b erst dann zu schliessen, nachdem das Blut 2—3 Sekunden lang bei f frei abgeflossen ist. — Sogleich nach Schluss des Hahns e und nach richtiger Einstellung von b erfolgt die Mischung von Blut und Wasser in erwünschtester Weise,

Um endlich die zweckmässig verdünnte Blutlösung unter Ausschluss atmosphärischer Luft in die Absorptionszelle zu drängen, kann man sich einer Anordnung bedienen, die in Figur IV. veranschaulicht ist. Hier strömt das auf die früher beschriebene Weise gereinigte Wasserstoffgas anfangs ungehindert auf 2 besonderen Zweigbahnen aus. Der eine Strom

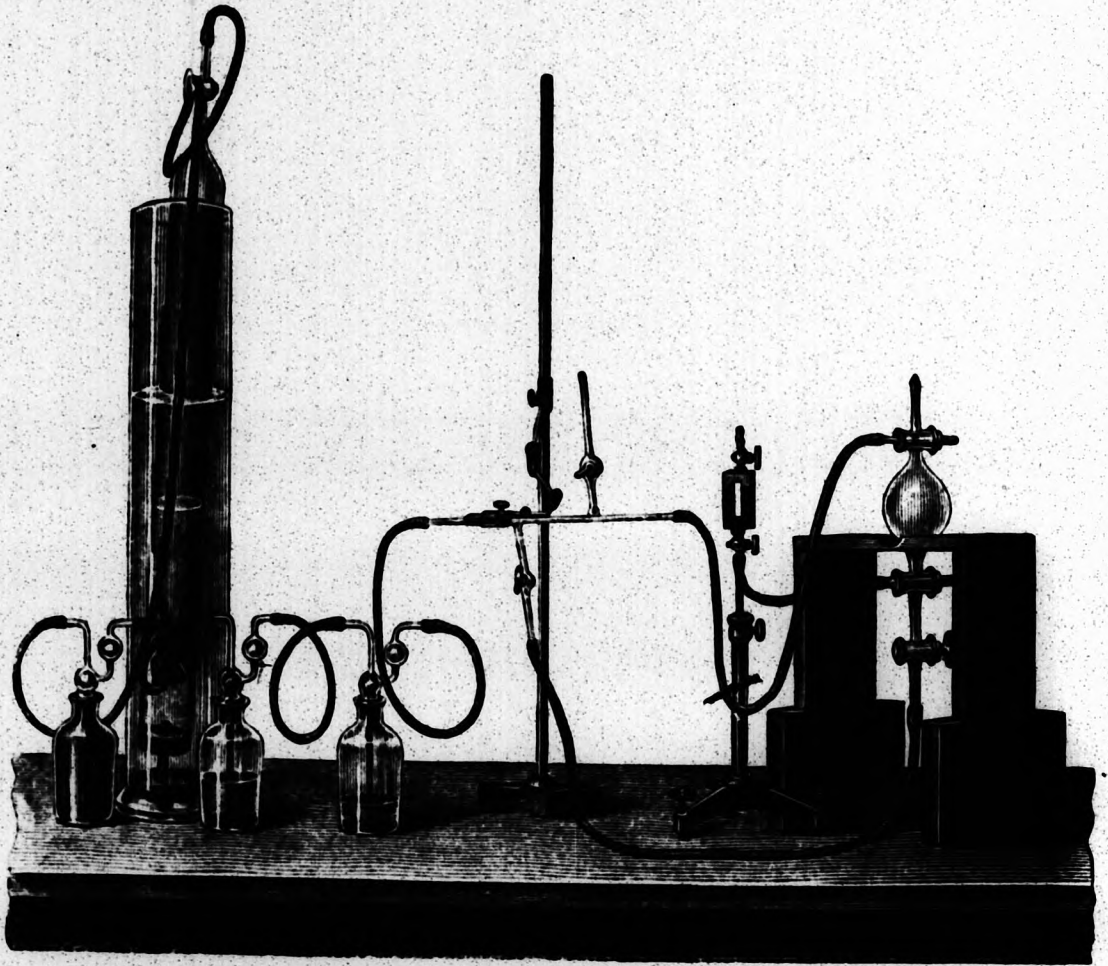


Fig. V

dringt bei z in den Kugelapparat ein und bei g schon heraus; der andere gelangt, nachdem er den Apparat bei f betreten und durch β wieder verlassen (der flüssige Inhalt von m war schon vorher entleert worden), durch den anschliessenden Schlauch noch in die Absorptionszelle, um auch diese von atmosphärischer Luft zu säubern. Sobald man sicher sein kann, dass alle diese Bahnen nur mit Wasserstoffgas gefüllt sind, schliesst man zunächst c und stellt dann den Hahn d derartig ein, dass der bei z eindringende Gasstrom auf die in n befindliche Flüssigkeit drückt. Hierauf dreht man auch b um einen halben Kreisbogen, sodass nun die Flüssigkeit, vom Wasserstoffe gefolgt, bei β aus- und durch den Schlauch in die Absorptionszelle hineinfliesst. Ist dies geschehen, sind auch die beiden Metallhähne der Absorptionszelle geschlossen, so hat man in der That sämtliche Vorbedingungen erfüllt, die oben als für die spectrophotometrische Untersuchung unerlässlich bezeichnet wurden.

§ 6.

Einige nach dem soeben beschriebenen Verfahren an venösem und arteriellem Blute erhaltene Resultate.

Auf Seite 4 wurden die Gleichungen angegeben, nach denen man bei gleichzeitiger Anwesenheit von Hämoglobin und Oxyhämoglobin den Procentgehalt einer Lösung an jeder der beiden Substanzen berechnen kann. Da nun in den anzuführenden Versuchen das defibrinirte Blut von m bis auf $n + m = v$ Cc. verdünnt war, so braucht man die für die verdünnte Lösung erhaltenen Zahlenwerthe nur mit $\frac{v}{m}$ zu multipliciren, um h_r und h_o , d. h. den Gehalt von 100 Cc. unverdünnten Blutes an Hämoglobin, bezüglich Oxyhämoglobin, zu erfahren. Man hat also die beiden Gleichungen:

$$h_r = \frac{v}{m} \cdot \frac{\Lambda_r \Lambda_r' (E \Lambda_o' - E \Lambda_o)}{\Lambda_o \Lambda_r - \Lambda_o \Lambda_r'}, \quad (7)$$

$$h_o = \frac{v}{m} \cdot \frac{\Lambda_o \Lambda_o' (E \Lambda_r - E \Lambda_r')}{\Lambda_o \Lambda_r - \Lambda_o \Lambda_r'}. \quad (8)$$

Versuch 1a.

Blut aus der rechten Cruralvene; hatte kaum mehr als 1 Minute vor dem Auffangen gestaut; nach dem Defibriniren in Kugelapparat I gebracht.

Die Zahlenwerthe für die in beiden Gleichungen vorkommenden Grössen sind folgende:

$$\begin{aligned} m &= 0,9547, \\ n &= 162,1600, \\ v &= 163,1147, \\ \Lambda_o &= 0,1477, \\ \Lambda_o' &= 0,1110, \\ \Lambda_r &= 0,1220, \\ \Lambda_r' &= 0,1499, \\ E &= 0,73788, \\ E' &= 0,80444. \end{aligned}$$

Hiernach ergibt sich:

$$h_r = 7,155$$

$$h_o = 9,955$$

$$\text{Gesamtfarbstoffmenge} = 17,110$$

Versuch 1b (zur Controle.)

Um die Probe zu machen, ob die Bestimmung der beiden Componenten auch wirklich richtig, ob namentlich die verschiedenen optischen Constanten vorher richtig bestimmt seien, wurde die im Kugelapparate enthaltene Lösung mit atmosphärischer Luft geschüttelt und ihr nunmehriger Gehalt an Oxyhämoglobin nach der leicht verständlichen Gleichung ermittelt:

$$h_o = \frac{\epsilon_o A_o v}{m} \quad (9)$$

Der Versuch ergab für ϵ_o den Werth 0,68146. Da nun die Zahlenwerthe der übrigen in der Gleichung vorkommenden Grössen dieselben waren wie in Versuch Ia, so erhielt man:

$$h_o = 17,20.$$

Versuch 2.

Blut aus der gleichen Vene und aus dem gleichen Schüttelgefässe, nachdem es, in letzterem wohl verwahrt, 3 Stunden lang bei Zimmertemperatur gestanden hatte. Kugelapparat II. Hier waren:

$$m = 0,9614,$$

$$n = 160,0000,$$

$$v = 160,9614,$$

$$E = 0,76966,$$

$$E' = 0,82764.$$

Die übrigen Grössen sind aus Versuch Ia bekannt.

$$h_r = 7,760$$

$$h_o = 9,632$$

$$\text{Gesamtfarbstoffgehalt} = 17,392.$$

Ein Controlversuch wurde leider nicht angestellt.

Versuch 3a.

Dasselbe Cruralvenenblut, nachdem es, nicht besonders vor dem Zudringen von atmosphärischer Luft geschützt, weitere 3 Tage in einem sehr kühlen Raume gestanden.

$$\begin{aligned} m &= 0,9547, \\ v &= 163,1147, \\ E &= 0,73098, \\ E' &= 0,86546. \end{aligned}$$

Der Werth der übrigen Grössen ist derselbe wie früher.

$$h_r = 4,226$$

$$h_o = 13,210$$

$$\text{Gesamtfarbstoffgehalt} = 17,436.$$

Versuch 3b.

Nach dem Schütteln mit Luft:

$$\varepsilon_o = 0,70604.$$

Demnach, nach Gleichung (9)

$$h_o = 17,81.$$

Versuch 4a.

Blut aus der linken Cruralvene desselben Thieres:

$$\begin{aligned} m &= 0,9547, \\ v &= 163,1147, \\ E &= 0,68392, \\ E' &= 0,80854. \end{aligned}$$

Die Werthe der übrigen Grössen sind bekannt.

$$h_r = 4,092$$

$$h_o = 12,300$$

$$\text{Gesamtfarbstoffgehalt} = 16,392.$$

Versuch 4b.

Nach dem Schütteln mit Luft:

$$\varepsilon_o = 0,65016; \text{ also}$$

$$h_o = 16,41.$$

Versuch 5a.

Arteriellcs Blut, unmittelbar nach Anzapfung der Vene aus der daneben liegenden Cruralarterie entnommen:

$$\begin{aligned}
 m &= 0,9614, \\
 v &= 160,9614, \\
 E &= 0,63022, \\
 E' &= 0,81268.
 \end{aligned}$$

Uebrigte Werthe bekannt. Darnach:

$$h_r = 1,022$$

$$h_o = 14,310$$

$$\text{Gesamtfarbstoffgehalt} = 15,332.$$

Versuch 5b.

Nach dem Schütteln mit Luft:

$$\epsilon'_o = 0,82282; \text{ also nach Gleichung:}$$

$$h_o = \frac{\epsilon'_o \Lambda' v}{m} \quad (10)$$

$$h_o = 15,29.$$

Zur bequemeren Uebersicht seien hier die Resultate aller einzelnen Versuche und Controlversuche, soweit sie den Gesamtfarbstoffgehalt anzeigen, noch einmal zusammen und nebeneinander gestellt.

Versuchsnummer.	Hauptversuch.	Controlversuch.
1	17,110	17,200
2	17,392	fehlt.
3	17,436	17,810
4	16,392	16,410
5	15,332	15,290

Aus vorstehender Zusammenstellung geht wohl zur Genüge hervor, in welch' geradezu ausgezeichneter Weise das Spectrophotometer über den Gehalt eines Blutes an Hämoglobin und Oxyhämoglobin und damit zugleich an Sauerstoff Aufschluss zu geben vermag. ¹⁾

¹⁾ Da arterielles Blut in der Absicht eines Vergleichs mit dem zugehörigen Venenblute in meinen bisherigen Versuchen nur 1 mal untersucht wurde, so möchte ich wegen des im Cruralvenenblute vorgefundenen Mehrgehalts an Farbstoff einen allgemeinen Schluss mir noch nicht erlauben. Nahe liegt es indessen, diesen Mehrgehalt daher zu erklären, dass ein Theil des Wassers, das vom arteriellen Blute in die einzelnen Organe geführt wird, diese Organe nicht auf dem Wege der Venen, sondern auf demjenigen der Lymphgefäße oder noch auf anderen Bahnen wieder verlässt.

Multiplirt man z. B. die Zahl 14,31 mit unserer früher bestimmten Constante 1,21, so berechnet sich für das untersuchte Cruralarterienblut ein Sauerstoffgehalt von 17,31 Volumprocent, eine Zahl, die bekanntlich bei Auspumpungen des Blutes bisweilen noch weit überschritten wurde.

Multiplirt man dagegen die im Venenblute gefundenen Oxyhämoglobinnengen mit der nämlichen Constante, so erhält man folgende Zahlen:

Versuchsnummer.	Sauerstoff in Vol. %
1 a.	12,04
2.	11,65
3 a.	15,98
4 a.	14,88

Von diesen 4 Zahlen verdient wohl die in Versuch 3 a gefundene, insofern sie sich nicht auf frisch dem Thiere entnommenes Blut bezieht, gar keine Berücksichtigung: dagegen wurden Sauerstoffmengen von der Grösse wie in 1 a und 2 aus venösem Blute schon mehrfach durch blosses Auspumpen gewonnen. Nur der Werth 14,88 erscheint etwas hoch: allein wer bürgt uns denn für die Richtigkeit der auf dem Wege der Auspumpung erhaltenen Resultate? Sollte nicht gerade im venösen Blute, namentlich sobald es zum Zwecke der Sauerstoffaustreibung auch noch erwärmt wird, die sogenannte Sauerstoffzehrung vorzüglich begünstigt sein?

Ich hoffe zur Entscheidung dieser und ähnlicher Fragen sehr bald ein reichlicheres Beobachtungsmaterial zur Hand zu haben. Auch bin ich andererseits wieder mit Versuchen beschäftigt, um die Constante $\frac{V}{Hb}$ noch nach einem neuen Verfahren festzustellen.

Tübingen, den 5. Dezember 1878.

Nachschrift.

Herr Prof. v. Vierordt hat, wie ich erst nachträglich gesehen, in seinen verschiedenen Werken über quantitative Spectralanalyse als «Concentration» einer gefärbten Flüssigkeit das Verhältniss bezeichnet, in welchem die Ge-

wichtsmenge des in Lösung befindlichen Farbstoffs zur Volumeneinheit (= 1 Cc.) der Lösung steht. Ich selbst habe, daran gewöhnt, bei dem Worte «Concentration» immer sogleich an den Procentgehalt zu denken, als Ausdruck für die erstere bei allen meinen Bestimmungen den Quotienten $\frac{p}{100}$ gewählt, worin p das in 100 Gewichtstheilen der Lösung enthaltene Gewicht des Farbstoffs bedeutet. Dadurch sind aber alle meine Werthe für die gesuchten Absorptionsverhältnisse 100 mal grösser geworden, als sie nach v. Vierordt's Definition hätten werden können. v. Vierordt's Berechnungsweise der Absorptionsverhältnisse ist in den Lehrbüchern bereits adoptirt. Im Interesse der Sache, d. h. um das allgemeine, wie das gegenseitige Verständniss nicht zu erschweren, werde ich künftig dem Vorgange des Herrn Prof. v. Vierordt insofern folgen, als ich alle bisher von mir festgestellten und benutzten Werthe irgend welcher Absorptionsverhältnisse nur noch durch 100 dividirt angebe; z. B. also anstatt 0,1110 künftig schreibe 0,001110. —

Hüfner.